

**RU-0130**



**CD**

**PCT**

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6 :	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 96/11004</b>
A61K 31/40		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 18. April 1996 (18.04.96)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE95/01395		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(22) Internationales Anmeldedatum: 5. Oktober 1995 (05.10.95)		
(30) Prioritätsdaten: P 44 35 661.7 5. Oktober 1994 (05.10.94) DE		<b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
(71) Anmelder ( <i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i> ): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE).		
(72) Erfinder; und		
(75) Erfinder/Anmelder ( <i>nur für US</i> ): RÖSL, Frank [DE/DE]; Max-Slevogt-Strasse 12, D-67141 Neuhofen (DE). ZUR HAUSEN, Harald [DE/DE]; Im Scheibling 6, D-69493 Hirschberg (DE).		
(74) Anwalt: HUBER, Bernard; Müller-Börg & Partner, Grafinger Strasse 2, D-81671 München (DE).		

(54) Title: AGENT FOR TREATING PAPILLOMA VIRUS-POSITIVE MALIGNANT AND PREMALIGNANT LESIONS

(54) Bezeichnung: MITTEL ZUR BEHANDLUNG VON PAPILLOMVIRUS-POSITIVEN MALIGNEN UND PRÄMALIGNEN LÄSIONEN

**57) Abstract**

The present invention concerns an agent comprising a substance which influences the redox status of cells for treating papilloma virus-positive malignant lesions.

**57) Zusammenfassung**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Mittel umfassend eine den zellulären Redoxstatus beeinflussende Substanz zur Behandlung von apillomvirus-positiven malignen Läsionen.

**BEST AVAILABLE COPY**

0610-108

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Oesterreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Burbedos	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KR	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LJ	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

**Mittel zur Behandlung von Papillomvirus-positiven malignen und prämaligen Läsionen**

Die Erfindung betrifft die Verwendung eines Mittels umfassend eine den zellulären Redoxstatus beeinflussende Substanz zur Behandlung von Papillomvirus-positiven malignen und prämaligen Läsionen.

Es ist bekannt, Läsionen, die durch humanpathogene Papillomviren (HPV) hervorgerufen werden, durch Applikation von Zytokinen, wie  $\alpha$ -Tumornekrosinfaktor und Interferone zu behandeln. Hierzu werden Zytokine in hohen Dosen verabreicht. Die Behandlung von Patienten mit hohen Zytokindosen wird von erheblichen Nebenwirkungen, wie Cachexie, Übelkeit, Erbrechen und Kopfschmerz, begleitet.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel zur Behandlung von Papillomvirus-positiven malignen und prämaligen Läsionen bereitzustellen, mit dem die vorstehenden Nebenwirkungen vermindert werden.

Erfindungsgemäß wird dies durch die Verwendung eines Mittels, umfassend eine den zellulären Redoxstatus beeinflussende Substanz, erreicht.

Der Ausdruck "eine den zellulären Redoxstatus beeinflussende Substanz" umfaßt Verbindungen jeglicher Art, die den Redoxstatus von Zellen, insbesondere von Wirtszellen von Papillomviren, vermindern können. Diese können z.B. körperfremde Verbindungen sein. Beispiele vorstehender Verbindungen sind Antioxidantien, wie Pyrrolidin-dithiocarbamate (PDTC) und Derivate davon. Die im erfindungsgemäß verwendeten Mittel enthaltene Verbindung kann auch erst in der zu behandelnden Zelle in die eigentliche den zellulären Redoxstatus beeinflussende Substanz metabolisiert werden.

In den erfindungsgemäß verwendeten Mitteln können auch mehrere vorstehende Substanzen enthaltend sein.

Damit die Modulatorsubstanz ihre Wirkung entfalten kann, muß sie im Körper sowohl intra- als auch extrazellulär ausreichend stabil sein, d.h. sie darf nicht in eine unwirksame Verbindung metabolisiert werden, bevor sie ihre Wirkung entfaltet hat. Der Fachmann weiß, welche Faktoren die Stabilität beeinflussen. Außerdem weiß er, wie lange eine Verbindung stabil sein muß, um ihre Wirkung zu entfalten. Weiterhin kennt er Tests, wie die Stabilität der Verbindungen ermittelt werden kann.

In einer bevorzugten Ausführungsform weist das Mittel weiterhin ein Zytokin auf. Beispiele solcher sind Interferone und  $\alpha$ -Tumornekrosinfaktor ( $\alpha$ -TNF). Vorzugsweise wird ein rekombinantes Interferon und rekombinantes  $\alpha$ -TNF verwendet. Die mit den erfindungsgemäß verwendeten Mitteln verabreichte Zytokindosis ist geringer als die bisher verabreichte Zytokindosis. Somit kann mit dem erfindungsgemäß verwendeten Mittel die positive Wirkung von Zytokinen erreicht werden, ohne deren vorstehende Nachteile zur Folge zu haben. Auch wird bei Vorliegen eines Zytokins die Wirkung der den zellulären Redoxstatus beeinflussenden Substanz gesteigert.

Erfindungsgemäße Konjugate zeichnen sich dadurch aus, daß sie Nebenwirkungsarm sind. Somit sind bestens zur Therapie von Papillomvirus-positiven, insbesondere HPV-positiven malignen und prämalignen Läsionen geeignet, wie Karzinome des Genitalbereichs. Darunter fallen auch Warzen.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung:

**Beispiel 1: Reduktion der HPV 18 Transkription durch PDTC**

HPV-positive Zellen (DEM Medium, 10 % fötales Kälberserum (BRL), 1 % Penicillin/Streptomycin) werden mit PDTC (von Sigma, direkt vor Versuchsbeginn in

## 3

serumfreiem DEM Medium gelöst; Endkonzentration: 100 $\mu$ M) unter üblichen Bedingungen inkubiert. Nach 6 Stunden kommt es zu einer etwa 70 %igen Reduktion der HPV 18 Transkription (Nachweismethode: übliche "Northern"-Blotanalyse). Die Reduktion der HPV 18 Transkription ist ein Indikator für vermindertes Zellwachstum der HPV-positiven Zellen und somit auch für die therapeutische Wirksamkeit.

**Beispiel 2:** Supression der HPV 18 (spezifischen RNA) Transkription durch eine Kombination von PDTC und  $\alpha$ -TNF

Nicht-tumorige Zellhybride zwischen HPV 18-positiven Zervixkarzinomzellen (HeLa) und humanen Fibroblasten werden mit 100 bis 150 Einheiten/ml  $\alpha$ -TNF und 100  $\mu$ M PDTC inkubiert. Die RNA-Extraktion erfolgt nach 12 - 14 Stunden. Unter diesen Bedingungen kommt es zu einer nahezu kompletten Supression der HPV 18-Transkription.

Wird  $\alpha$ -TNF alleine verwendet, so ist der gleiche Supressionseffekt bei etwa 500 Einheiten/ml  $\alpha$ -TNF zu beobachten.

Wie aus vorstehenden Ergebnissen zu ersehen ist, kann durch gleichzeitige Verabreichung von PDTC und  $\alpha$ -TNT die  $\alpha$ TNF-Dosis im Vergleich zur alleinigen Verabreichung von  $\alpha$ -TNT vermindert werden, wobei der gleiche Effekt erzielt wird.

**Patentansprüche**

1. Mittel zur Behandlung von Papillomvirus-positiven gutartigen, malignen und prämalignen Läsionen, umfassend eine den zellulären Redoxstatus beeinflussende Verbindung und übliche Hilfsstoffe.
2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung ein körperfremdes Antioxidans ist.
3. Mittel nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Antioxidans ein Pyrrolidindithiocarbamat oder ein Derivat davon ist.
4. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß es weiterhin ein Zytokin enthält.
5. Mittel nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Zytokin  $\alpha$ -Tumornekrosisfaktor, ein Interferon oder ein Interleukin ist.
6. Verwendung einer den zellulären Redoxstatus beeinflussenden Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Papillomvirus-positiven gutartigen, malignen und prämalignen Läsionen.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE 95/01395

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/40

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	J.VIROL., vol. 68, no. 4, April 1994 pages 2142-2150, F.RÖSL ET AL. 'Differential REGulation of the JE Gene Encoding the Monocyte Chemoattractant Protein (MCP-1) in Cervical Carcinoma Cells and Derived Hybrids' see the whole document ---	1-6
X	EP,A,0 527 241 (ARTESAN PHARMA GESELLSCHAFT MIT BESCHRÄNKTER HAFTUNG) 17 February 1993 see the whole document ---	1-6
	-/-	

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*'A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*'E' earlier document but published on or after the international filing date
- \*'L' document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*'T' later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*'X' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*'Y' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*'A' document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 February 1996

Date of mailing of the international search report

22.03.96

## Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patendaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

## Authorized officer

Theuns, H

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat. Application No  
PCT/DE 95/01395

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	DATABASE WPI Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 95-311860 & CA,A,2 113 683 (MOUNT SINAI HOSPITAL CORP.) see abstract -----	1-6

1

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-0527241	17-02-93	US-A- 5371107 DE-D- 59101214	06-12-94 21-04-94

Form PCT/ISA/218 (patent family annex) (July 1992)

**INTERNATIONALER RECHERCHEBERICHT**

Internat.	Aktenzeichen
PCT/DE 95/01395	

**A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
**IPK 6 A61K31/40**

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprässtoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)  
**IPK 6 A61K**

Recherchierte aber nicht zum Mindestprässtoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	J.VIROL., Bd. 68, Nr. 4, April 1994 Seiten 2142-2150, F.RÖSL ET AL. 'Differential Regulation of the JE Gene Encoding the Monocyte Chemoattractant Protein (MCP-1) in Cervical Carcinoma Cells and Derived Hybrids' siehe das ganze Dokument ---	1-6
X	EP,A,0 527 241 (ARTESAN PHARMA GESELLSCHAFT MIT BESCHRÄNKTER HAFTUNG) 17.Februar 1993 siehe das ganze Dokument ---	1-6

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- \*'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- \*'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipiell oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- \*'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- \*'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist
- \*'Z' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

1

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Ablaufdatum des internationalen Recherchenberichts
28. Februar 1996	22.03.96
Name und Postanschrift der internationale Recherchebehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patenttaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+ 31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bedensteller  Theuns, H

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internatno : Aktenzeichen  
PCT/DE 95/01395

C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X,P	<p>DATABASE WPI</p> <p>Derwent Publications Ltd., London, GB;</p> <p>AN 95-311860</p> <p>&amp; CA,A,2 113 683 (MOUNT SINAI HOSPITAL CORP.)</p> <p>siehe Zusammenfassung</p> <p>-----</p>	1-6
1		

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internat. Aktenzeichen

**PCT/DE 95/01395**

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A-0527241	17-02-93	US-A- 5371107 DE-D- 59101214	06-12-94 21-04-94
-----			

Formblatt PCT/ISA/218 (Anhang Patentfamilie)(Juli 1992)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**